

Aus dem Anatomischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Direktor: Prof. Dr. Dr. A. Dabelow

# Über Veränderungen der Anfärbbarkeit der Mastzellgranula in Rattenschilddrüsen unter TSH- und Kälteeinwirkung

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von Wolfgang Zerbe aus Wiesbaden

Mainz 1967



Aus dem Anatomischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Direktor: Prof. Dr. Dr. A. Dabelow

# Über Veränderungen der Anfärbbarkeit der Mastzellgranula in Rattenschilddrüsen unter TSH- und Kälteeinwirkung

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von Wolfgang Zerbe aus Wiesbaden

Mainz 1967

Dekan: Prof. Dr. Diethelm  
Referent: Prof. Dr. Müller  
Korreferent: Prof. Dr. Watzka



## Inhaltsverzeichnis

|                                             | <u>Seite</u> |
|---------------------------------------------|--------------|
| A) Einleitung                               | 1            |
| B) Untersuchungen                           |              |
| 1. Tierversuche                             | 4            |
| 2. Färbung nach Hale+PAS                    | 5            |
| 3. Färberische Eigenschaften des Heparins   | 6            |
| 4. Chemische Grundlagen der Farb-reaktionen | 9            |
| 5. Versuchsanordnung                        | 11           |
| C) Statistische Berechnungen                |              |
| 1. Die Varianzanalyse                       | 16           |
| 2. Ergebnisse                               | 18           |
| 3. Zusammenfassung                          | 23           |
| D) Diskussion                               | 25           |
| E) Zusammenfassung                          | 31           |
| F) Literaturverzeichnis                     | 32           |



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41546219\\_0103](https://archive.org/details/IA41546219_0103)

### A) Einleitung

In den folgenden Ausführungen soll untersucht werden, ob und inwieweit Mastzellen im interfollikulären Gewebe von Rattenschilddrüsen auf thyreoideastimulierende Faktoren, wie TSH oder Kälteeinwirkung, ansprechen und bezüglich ihrer Anfärbbarkeit mittels der Hale'schen bzw. der PAS - Reaktion sowie der Menge ihrer zelleigenen Granula Veränderungen erleiden.

Mastzellen sind polygonal gestaltete, unterschiedlich große, wahrscheinlich dem Kapillarmesenchym entstammende Bindegewebszellen.

Zuerst von Waldeyer (1875) beschrieben und als fettspeichernde Zellen angesehen, wurden sie von Ehrlich (1879) aufgrund ihrer Metachromasie als einheitliches Zellsystem erkannt und Mastzellen genannt. Als hervorstechendstes Merkmal neben ihrer Metachromasie sind strukturierte Zellorganellen von homogenem, reticulärem oder lamellärem Aufbau zu bezeichnen, die Granula. Ihre Zahl wechselt von Zelle zu Zelle, ihre Größe beträgt im Durchschnitt  $0,7\mu$ . Sie liegen innerhalb maschiger Hohlräume, die durch schmale Plasma-  
brücken voneinander abgegrenzt werden.

Einige Autoren sehen die Mastzellgranula als

Speicherformen von Mitochondrien (Riley 1939) an oder als Übergangsstufen aus Mitochondrien (Gusek 1960/61). Neuere Untersuchungen (Schauer 1964) ergaben, daß sich zumindest synthetische Teilvorgänge im Golgibereich unter Mitwirkung des Kernstoffwechsels abspielen, was gegen eine reine Mitochondrientransformation sprechen würde.

Die erste klare Konzeption über die Physiologie der Mastzellen wurde von Staemmler 1921 gegeben, er nannte sie "einzellige, drüsige Organe" wegen ihres Gehaltes an Heparin und kreislaufaktiven Substanzen wie Histamin und 5-Hydroxytryptamin (Serotonin).

Diese Stoffe werden in den Mastzellen synthetisiert und in den Granula gespeichert. Den Beweis für Heparin lieferten Jorpes, Odeblad und Boström (1953), Magnussen und Larsson (1955), Korn (1959) durch den Nachweis des intracellulären Einbaus von  $S_{35}$ -Sulfat und  $C_{14}$ -Glucose. Riley und West zeigten 1953, daß der Gehalt der Gewebe an Histamin mit der Verteilung der Mastzellen eng korreliert ist.

Schauer (1964) sah eine Vacuolisierung der Mastzellen bei akuter Kreislaufstörung, die für eine Freisetzung von Histamin spricht.

Serotonin schließlich wurde von Benditt und Mitarbeitern 1955 erstmals in den Mastzellen nachgewiesen.

Außerdem sind die metachromatischen Granula der Mastzellen auch Träger zahlreicher Enzyme besonders des Eiweiß- und Phosphatstoffwechsels (Bildung eines Fibrinolysefaktors, Bildung von Bindegewebsgrundsubstanz, Abbau von Lipoidstrukturen).

Lindner, Dina (1965) konnte anhand von Mastzelluntersuchungen in der Subcutis von Meerschweinchen eine verstärkte Lysis der Granula bei Hydrocortisonbehandlung, Entzündung und aktiver Immunisierung nachweisen.

Santini stellte 1962 die Hypothese auf, daß sich die Mastzellen in den Stoffwchelaustausch zwischen Parenchym und Säftestrom einschalten.

## B) Untersuchungen

### 1. Tierversuche

Insgesamt kamen 18 weiße, männliche Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 150 g zur Untersuchung, von denen jeweils 3 gleichartig behandelt wurden, so daß sich also 6 verschiedene Behandlungsweisen ergeben.

Gruppe I: Der ersten Gruppe wurden 5 I.E. TSH intraperitoneal injiziert, die Tötung erfolgte nach Ablauf von 2 Stunden.

Gruppe II: Injektion von TSH wie oben, Tötung nach Ablauf von 8 Minuten.

Gruppe III: 2 Stunden nach der Injektion von 5 I.E. TSH wurden die Tiere einer Temperatur von minus 30° C für etwa 2 Stunden ausgesetzt und dann getötet.

Gruppe IV: Hier erfolgte die Kälteeinwirkung von minus 30° C für 2 Stunden bereits 8 Minuten nach der Injektion von TSH.

Gruppe V: Diese Tiere wurden lediglich der Kälteeinwirkung von minus 30° C exponiert und dann abgetötet.

Gruppe VI: Unbehandelte Kontrollgruppe bei Zimmertemperatur (d.h. plus 20° C).

Die Tiere wurden nach den oben angegebenen Zeiten mittels Chloroform getötet, die Schilddrüse mit der Trachea zusammen in der Lösung nach Bouin

fixiert. Anschließend erfolgte die Einbettung in Paraffin über Benzol-Methylbenzoat. Es wurden Schnitte von  $10\mu$  Dicke angefertigt, und die Färbung nach Hale-PAS bzw. PAS-Hale durchgeführt.

Zur Untersuchung gelangten jedoch lediglich die Präparate mit der Färbung nach Hale-PAS.

## 2. Färbung nach Hale-PAS

Es handelt sich hierbei um eine Doppelfärbung. Zuerst wurde die Hale'sche Färbung ausgeführt in der Modifikation nach Müller (1955-56). Hale beschrieb 1946 eine Methode zur Darstellung spezifischer Kohlehydrate wie saure Mucopolysaccharide, zu denen auch das Heparin gehört, in Gewebsschnitten nach Vorbehandlung mit einer kolloidalen Eisenhydroxydlösung. Die Modifikation der Eisenhydroxydlösung nach Müller ergab den Vorteil der größeren Spezifität. Es kommen zwei verschiedene Lösungen zur Verwendung.

Lösung 1 : 750 ml Aqua dest. werden aufgekocht und dabei 12 ml einer 32 %igen  $\text{Fe}_3$  - Chloridlösung zugegeben. Das entstandene Sol ist dunkelrot, klar und beständig.

Lösung 2 : Lösung 2 muß jeweils frisch angesetzt werden und enthält in einer 1 %igen Salzsäurelösung soviel K-Ferrocyanid gelöst, daß eine 0,5 %ige Lösung des Salzes entsteht.

Die Mehrzahl der Mastzellgranula färbt sich nach dieser Methode blau. Eine geringe Anzahl der Granula färbt sich Dank der PAS-Reaktion rot. Diese "Periodic Acid Schiff Reaction" beruht auf der Tatsache, daß Perjodsäure 1,2 - Glycolgruppen in Gewebsschnitten oxydiert, besonders in Material, welches aus Kohlehydraten besteht oder solche enthält. Dabei bilden sich Aldehyde, welche durch das Schiff'sche Reagenz gefärbt werden.

Beide oben beschriebenen Färbemethoden wurden zuerst von Ritter und Oleson kombiniert angewandt.

Nach Müller (1959) ist es möglich, daß die roten, also PAS-positiven Granula noch nicht mit Schwefelsäure veresterte Vorstufen des Heparins darstellen, blauviolette hingegen Heparinmonoschwefelsäure und kräftig blaue (also Hale-positive) Granula  $\beta$ -Heparin enthalten. Es besteht außerdem die Hypothese, daß bei schnell verendenden Tieren mehr Granula, bei langsam verendenden weniger Granula in den Mastzellen anzutreffen sind, vermutlich auf Grund einer gesteigerten Abgabe von Histamin und Heparin in der Agonie und einer dadurch bedingten Lyse der Granula (Ehrenbrandt 1964).

### 3. Färberische Eigenschaften des Heparins

Aus verschiedenen Geweben, die reich an Mastzellen sind - so die Leberkapsel - konnten Holmgreen und

Wilander 1937 eine Substanz isolieren, welche die gleiche antikoagulativen Eigenschaften zeigte wie das Heparin, das Jorpes im Jahre 1935 rein darstellen konnte. Dabei stellte sich heraus, daß die Menge des in den Gewebsmastzellen angenommenen metachromotropen Materials in Relation stand zu der chemisch nachweisbaren Konzentration an Esterschwefelsäure, die nach einer Forderung Lisons (1935) für die metachromatische Reaktion bei Anwendung von Toluidinblau verantwortlich sein sollen. In der folgenden Zeit wurde dann angenommen, daß die metachromatisch reagierenden Mastzellgranula Heparin oder heparinähnliche Substanzen enthalten. Bei systematischen Untersuchungen zeigte sich jedoch, daß nicht nur die Mastzellgranula, sondern auch völlig andere Gewebsteile eine metachromatische Reaktion aufwiesen, die mit Sicherheit kein Heparin enthalten.

Müller (1957) konnte eine metachromatische Reaktion der Mucoitinschwefelsäure nachweisen. Mucoitin und Heparin sind jedoch ähnlich gebaute Stoffe. Das Heparin besteht aus einem Gemisch von Glucuronsäure und Glucosamin, den gleichen Bausteinen also wie die Mucoitinschwefelsäure, enthält aber pro Struktureinheit mehrere Moleküle Schwefelsäure.

Mit Einsetzen der modernen Histochemie und der Anwendung neuer Methoden besonders in der

Polysaccharidchemie ist es dann gelungen, die Mastzellgranula genauer zu spezifizieren. Dies war umso erforderlicher, je deutlicher sich zeigte, daß unter verschiedenen physiologischen und pathologischen Umständen sich das Verhalten der Mastzellen nicht nur morphologisch, sondern auch histochemisch vollkommen änderte. So wurden Degranulierungen der Mastzellen nach Thrombokinas-injektionen (Frick 1950), im Peptonschock und bei anaphylaktischen Zuständen, die mit einer deutlichen Erhöhung des Blutheparinspiegels einhergehen, beobachtet (Wilander 1939, Jaques und Waters 1941).

Die färberischen Eigenschaften der Mastzellgranula und die mit der histochemischen Methodik nachweisbaren Substanzen bleiben jedoch weiterhin stark umstritten, da die Granula und die in ihnen enthaltenen Stoffe wahrscheinlich einem ständigen Auf- und Abbau unterliegen, so daß mit der gleichen Methode unterschiedliche Ergebnisse erzielt werden.

Lange (1966) untersuchte nun die färberischen Eigenschaften des Heparins an der Reinsubstanz, um dann genauere Aufschlüsse über die funktionelle Histochemie der Mastzellgranula zu erhalten und kam dabei zu dem Ergebnis, daß bis auf geringfügige Abweichungen die Befunde genau denjenigen entsprechen, die am histologisch-en Schnittpräparat erzielt werden konnten.

In den untersuchten Geweben (Omentum, Fettgewebe um die Nebenniere, Leberkapsel, Darmwand-Submucosa) fanden sich Mastzellen, deren Granula unterschiedlich sowohl bei der PAS- Reaktion wie auch bei der Hale'schen Reaktion und einigen anderen Färbungen reagieren, d.h., die Anfärbbarkeit der einzelnen Mastzellen ist nicht einheitlich. Die Farbnuancen reichen bei der PAS-Reaktion vom zarten Rosa bis zum kräftigen Rot. Bei der Hale'schen Reaktion lassen sich ähnliche Nuancierungen erkennen. Nach Anwendung der kombinierten Hale+PAS-Reaktion fanden sich in allen Präparaten die schon von Müller (1959) angegebenen Farbtöne.

Lange (1966) führte nun die Azetylierung der Rein- substanz durch und fand, daß die PAS- und die Eisenbindungsreaktion negativ wurden. Anschließend Entazetylierung ergab wieder ein positives Resultat. Die Behandlung mit Chromsäure hatte nur einen Einfluß auf die Hale'sche Reaktion. Sie erschien abgeschwächt, fiel aber bei mehreren Kontrollen nicht negativ aus.

#### 4. Chemische Grundlagen der Farbreaktionen (nach Mc Manus 1960)

-----

Vergleicht man die Disaccharideinheiten der Chondroitinschwefelsäure und die Mucoitinschwefelsäure mit der nachstehend angegebenen Konstitution des Heparins nach M.L. Wolfrom et al. (1950),

so lassen sich auf den ersten Blick Gemeinsamkeiten erkennen, die auch die gleichartigen chemischen Reaktionen verständlich machen.

Alle 3 Substanzen weisen benachbarte OH-Gruppen auf, die von der Perjodsäure angegriffen und zu Aldehyden oxydiert werden können. Dementsprechend fällt auch die PAS-Reaktion positiv aus, die Ausstrichpräparate zeigen einen intensiven dunkelroten Farbton.

Zu gleichen Ergebnissen mit der PAS-Reaktion bei in vitro-Versuchen mit der Heparinmonoschwefelsäure kamen auch schon Jopes und Yamashina (1956). Durch die Acetylierung sollen die OH-Gruppen verestert und damit für den Angriff der Perjodsäure blockiert werden. Auch diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die Müller (1957) beim histotopochemischen Nachweis der Mucoitinschwefelsäure erzielen konnte.

Ebenso sind freie Sulfatgruppen beim Heparin vorhanden, die das kolloidale Eisen zu binden vermögen. Im Ausstrichpräparat ergab sich dann eine dunkelblaue Färbung. Durch Kombination mit der Eisenhydroxydsol-Reaktion kommt dann der rötlich-blauviolette Farbton zustande, der im Gewebsschnitt und in vitro beobachtet werden kann. Das Heparin ergibt also in Übereinstimmung mit Müller (1957) die gleichen Reaktionen wie die Mucoitinschwefelsäure und kann ebenso wie diese als saures

Mucopolysaccharid angesprochen werden.

Die oben angegebenen Reaktionen des Heparins können aber sicher nicht spezifisch für die Darstellung des Heparins sein. Aus diesem Grunde müssen auch die Untersuchungsergebnisse bezüglich eines Verlustes von Granula in den Mastzellen, die sich mit den oben genannten Methoden darstellen lassen, mit Zurückhaltung beurteilt werden.

Durch Vorbehandlung mit Heparinase konnte Lindner (1955) in den Mastzellen noch andere metachromatische Granula darstellen. Die Metachromasie ist also keine geeignete Methode, um über den Heparin Gehalt der Mastzellgranula genaueste Angaben machen zu können. Ebenso wenig eignen sich das Astra- oder Alcianblau zur spezifischen Darstellung des Heparins in den Mastzellen. Die weiteren, oben angeführten Substanzen, die in den Mastzellen nachgewiesen wurden, dürften ähnlich wie das Heparin bei den in Frage kommenden Färbungen eine positive Reaktion zeigen.

#### 5. Versuchsanordnung

Unter dem Mikroskop wurden bei 1000-facher Vergrößerung die Mastzellen aufgesucht, systematisch je 100 pro Präparat ausgezählt und wie folgt differenziert.

- Gruppe I : Mastzellen, die vorwiegend blaue bzw. blauviolette Granula enthielten (BG).
- Gruppe II : Mastzellen mit vorwiegend homogenblauem bzw. blauvioletter Inhalt (wobei zwar immer auch eine größere Anzahl Granula anzutreffen war, insgesamt jedoch eine auffällige Verminderung gegenüber der ersten Gruppe zu verzeichnen war). (HB)
- Gruppe III : Mastzellen mit vorwiegend roten und blauen bzw. blauvioletten Granula (RB).
- Gruppe IV : Mastzellen mit vorwiegend roten Granula (RG).

Die Ausdifferenzierung für jedes der 18 Präparate erfolgte dreimal, anschließend wurde der Mittelwert der gefundenen Zahlen errechnet. Bei der zweiten bzw. dritten Differenzierung des gleichen Präparates wurden jeweils verschiedene Regionen des gleichen Schnittes eingestellt.

Die gefundenen Werte sind den folgenden Tabellen zu entnehmen.

Tabellen der Mittelwerte

Tabelle 1

Tiere A

|                    | BG   | HB   | RB   | RG  |
|--------------------|------|------|------|-----|
| TSH 2 Std.         | 39,3 | 44,6 | 10,3 | 5   |
| TSH 8 Min.         | 63,6 | 26,3 | 7,3  | 2,6 |
| TSH 2 Std.u. -30°  | 38,3 | 47,3 | 13,3 | 1   |
| TSH 8 Min.u. -30°  | 47,6 | 29   | 17   | 6,3 |
| Normal Zimmertemp. | 45,6 | 25,3 | 20   | 9   |
| Normal -30°        | 66,3 | 30,3 | 3,3  | 0,3 |

Tabelle 2

Tiere B

|                    | BG   | HB   | RB   | RG  |
|--------------------|------|------|------|-----|
| TSH 2 Std.         | 39,6 | 47,6 | 10   | 2,6 |
| TSH 8 Min.         | 57   | 27,6 | 13   | 2,3 |
| TSH 2 Std. u.-30°  | 45,6 | 39,6 | 10,6 | 4,- |
| TSH 8 Min. u.-30°  | 63,3 | 31   | 5    | 0,6 |
| Normal Zimmertemp. | 49,3 | 24   | 17,3 | 9,6 |
| Normal -30°        | 63   | 35,3 | 1,6  | 0   |

Anmerkung:

BG = blau granuliert  
HB = homogen blau  
RB = rot-blau granuliert  
RG = rot granuliert

Tabelle 3

Tiere C

|                    | BG   | HB   | RB   | RG  |
|--------------------|------|------|------|-----|
| TSH 2 Std.         | 48   | 36   | 9,6  | 6,3 |
| TSH 8 Min.         | 47,6 | 45,6 | 4,6  | 1,3 |
| TSH 2 Std. u.-30°  | 45,6 | 38,3 | 10,6 | 5,3 |
| TSH 8 Min. u.-30°  | 44   | 45,3 | 7,6  | 2,3 |
| Normal Zimmertemp. | 53   | 27   | 15,6 | 3,6 |
| Normal - 30°       | 60,6 | 35,3 | 3,3  | 0,6 |

Tabelle der Gesamtmittelwerte aller drei Tiere

Tabelle 4

|                    | BG    | HB    | RB   | RG   |
|--------------------|-------|-------|------|------|
| TSH 2 Std.         | 126,9 | 128,2 | 29,9 | 13,9 |
| TSH 8 Min.         | 168,2 | 99,5  | 24,9 | 6,2  |
| TSH 2 Std. u.-30°  | 129,5 | 125,2 | 34,5 | 10,3 |
| TSH 8 Min. u.-30°  | 154,9 | 105,3 | 29,6 | 9,2  |
| Normal Zimmertemp. | 147,9 | 76,3  | 52,9 | 22,2 |
| Normal -30°        | 189,9 | 100,9 | 8,2  | 0,9  |

Anmerkung:

BG = blau granuliert  
HB = homogen blau  
RB = rot-blau granuliert  
RG = rot granuliert

Anhand dieser Werte allein läßt sich schon der Eindruck gewinnen, daß die unterschiedliche Behandlung der einzelnen Tiergruppen Veränderungen der Mastzellen bezüglich ihrer Anfärbbarkeit und der Zahl ihrer Granula nach sich gezogen hat. Als besonders auffällig wäre zu bezeichnen, daß die Zahl der überwiegend blau-granulierten Mastzellen bei den lediglich der Kälte ausgesetzten Tieren gegenüber allen anderen stark erhöht ist, und daß die Werte für die Tiere, welche 2 Stunden nach TSH-Injektion abgetötet wurden, denjenigen annähernd gleich sind, die bei den Tieren erzielt werden konnten, welche sich zusätzlich noch der Kältebehandlung aussetzen mußten. Dasselbe gilt auch für den Vergleich der Tiergruppen, die 8 Min. nach der TSH-Injektion abgetötet wurden bzw. sich der Kälte unterziehen mußten. Eindeutige Schlüsse hieraus kann man jedoch erst anhand von genauen statistischen Berechnungen ziehen, insbesondere bezüglich einer unterschiedlichen Verteilung der vorwiegend blau-und rot-granulierten und der vorwiegend rot-granulierten Mastzellen, da die Anzahl dieser Zellgruppen absolut und relativ zu klein ist, um definitive Unterschiede als gesichert betrachten zu können. Einzig auffällig scheint hierbei eine Temperaturabhängigkeit der nicht mit TSH vorbehandelten Tiere zu sein, im Sinne einer Verminderung der beiden letzt-genannten Zellgruppen unter Kälteinwirkung.

### C) Statistische Berechnungen

Die statistischen Berechnungen zur definitiven Aussage über etwaige bestehende Veränderungen der Schilddrüsenmastzellen im Anschluß an die verschiedenartigen Behandlungen der einzelnen Tiergruppen, bezogen auf die unbehandelten Normaltiere, wurden mittels der doppelten Varianzanalyse durchgeführt.

#### 1. Die Varianzanalyse (nach Cavelli-Sforza 1964)

Die Varianzanalyse oder Streuungszerlegung dient zum Vergleich der Mittelwerte eines Merkmals, festgestellt in mehreren Stichproben über das gleiche Merkmal (z.B. simultaner Vergleich mehrerer Behandlungen). Der Grundgedanke besteht darin, die Summe der Abweichungsquadrate einerseits und die Anzahl der Freiheitsgrade andererseits in zwei oder mehr Komponenten zu zerlegen und diese Komponenten zu vergleichen.

Voraussetzung ist, daß das Beobachtungsmaterial in den einzelnen Grundgesamtheiten, denen die Stichproben entstammen, normal verteilt ist und die gleiche Variabilität besitzt, wie das speziell für das Beispiel der Mastzellen zutrifft.

Wenn das Merkmal in jeder der Grundgesamtheiten dieselbe Normalverteilung hat, die Mittelwerte einander also gleich sind, kann man alle Stichproben

zu einer einzigen Stichprobe zusammenfassen und daraus den Gesamtmittelwert und die Summe der Abweichungsquadrate (bezogen auf den Gesamtmittelwert) berechnen, gleich Summe der Abweichungsquadrate insgesamt.

Ferner kann man in jeder einzelnen Stichprobe den Mittelwert und die Summe der Abweichungsquadrate (bezogen auf den jeweiligen Stichprobenmittelwert) berechnen. Die Zusammenfassung dieser Summen von Abweichungsquadraten zu einem einzigen Wert heißt Summe der Abweichungsquadrate innerhalb der Gruppen.

Schließlich kann man das Abweichungsquadrat jedes einzelnen Stichprobenmittelwertes vom Gesamtmittelwert bilden und aus diesen Werten eine Summe der Abweichungsquadrate zwischen den Gruppen berechnen.

Die beiden letztgenannten ergeben zusammen die Summe der Abweichungsquadrate insgesamt.

Parallel dazu läßt sich eine Aufteilung der Freiheitsgrade vornehmen. Dividiert man die einzelnen Quadratsummen durch die zugehörige Anzahl von Freiheitsgraden, so erhält man zwei Varianten, als Varianz innerhalb der Gruppen bzw. als Varianz zwischen den Gruppen bezeichnet.

Falls die Nullhypothese zutrifft (jede der Grundgesamtheiten hat dieselbe Normalverteilung), müssen beide Varianzen übereinstimmen. Ist die Varianz zwischen den Gruppen signifikant größer als die

Varianz innerhalb der Gruppen, so ist das Stichprobenmaterial in sich nicht homogen, d.h. das Beobachtungsmaterial besitzt nicht die gleiche Verteilung.

## 2. Ergebnisse

Wie bereits oben angegeben, wurden je 100 Zellen ausgezählt und der prozentuale Anteil der verschiedenen Zellformen registriert. Die Auswertung erlaubt deshalb keine Aussage über eine Zu- oder Abnahme der Mastzellen. Es können nur relative Änderungen aufgezeigt werden, wobei nicht entschieden werden kann, ob die beobachtete Veränderung durch Zu- oder Abnahme der betrachteten Zellform, der anderen Zellen oder durch Änderung aller Gruppen verursacht wurde. Die Auswertung erfolgte mittels der doppelten Varianzanalyse. Da es sich bei den Werten um Prozentzahlen handelt, wurde die arc sin  $\sqrt{x}$  Transformation durchgeführt.

Die Varianzanalyse erlaubt die gleichzeitige Beurteilung folgender Fragen:

1. Bestehen zwischen den Mittelwerten bei Zimmer-temperatur und bei  $-30^{\circ}$  C Unterschiede?
2. Bestehen zwischen den Mittelwerten der Kontrolltiere 8 Min. bzw. 2 Stunden nach TSH-Applikation Unterschiede?
3. Beeinflussen sich Temperatur und Behandlung gegenseitig, d.h. verhalten sich die Tiere unter der

Behandlung bei  $-30^{\circ}$  C anders als bei Zimmer-  
temperatur?

Der Faktor, der die gegenseitige Beeinflussung  
mißt, wird als Wechselwirkung oder Interaction  
bezeichnet.

Tabelle 5: Problem der vorwiegend rot-blau-granulierten  
Mastzellen.

| Varianz           | SAQ     | f  | MAQ     | F       | P                  |
|-------------------|---------|----|---------|---------|--------------------|
| zwischen Temp.    | 0,02436 | 1  | 0,02436 | 7,66    | $0,025 > P > 0,01$ |
| zw.Behandlungen   | 0,00492 | 2  | 0,00246 | 0,7736  |                    |
| Interaction       | 0,08577 | 2  | 0,04289 | 13,4874 | $P < 0,001$        |
| zw.Wiederholungen | 0,03819 | 12 | 0,00318 |         |                    |
| Summe             | 0,15324 | 17 |         |         |                    |

Anmerkung:

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

f = Zahl der Freiheitsgrade

MAQ = Mittlere Abweichungsquadrate =  $\frac{SAQ}{f}$  = Varianz

F = Varianzverhältnis

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Der Unterschied zwischen den Mittelwerten der  
Temperaturen ist an der Grenze der Sicherung.  
Auffällig ist die sehr hohe Wechselwirkung. Zur  
weiteren Beurteilung müssen deshalb die Mittelwerte  
betrachtet werden.

Tabelle 6: Transformierte Mittelwerte

|             | TSH 2 Std. | TSH 8 Min. | Kontrolle | Mittelwerte |
|-------------|------------|------------|-----------|-------------|
| - 30° C     | 0,3455     | 0,3099     | 0,1640    | 0,2732      |
| Zimmertemp. | 0,3212     | 0,2862     | 0,4329    | 0,34675     |
|             | 0,3333     | 0,2981     | 0,2985    | 0,3100      |

Es zeigt sich, daß nach TSH-Behandlung der Anteil der rot-blau-granulierten Mastzellen kleiner wird, sich bei Abkühlung jedoch nicht ändert. Dagegen sinkt der Anteil bei den Kontrolltieren in der Abkühlung sehr stark ab. Die Zerlegung der Wechselwirkung nach orthogonalen Vergleichen sichert diesen Befund.

Zwischen den mit TSH behandelten Tieren läßt sich keine Wechselwirkung sichern, die gesamte Wechselwirkung ist durch das Verhalten der Kontrolltiere bedingt.

Tabelle 7: Problem der vorwiegend rot-granulierten Mastzellen

| Varianz            | SAQ     | f  | MAQ     | F      | P               |
|--------------------|---------|----|---------|--------|-----------------|
| zwischen Temp.     | 0,02965 | 1  | 0,02965 | 8,1680 | 0,05 > P > 0,01 |
| zw. Behandlungen   | 0,00689 | 2  | 0,00344 | 0,9477 |                 |
| Interaction        | 0,04945 | 2  | 0,02472 | 6,8099 | P = 0,01        |
| zw. Wiederholungen | 0,04354 | 12 | 0,00363 |        |                 |
| Summe              | 0,12953 | 17 |         |        |                 |

Anmerkung:

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

f = Zahl der Freiheitsgrade

MAQ = Mittlere Abweichungsquadrate =  $\frac{SAQ}{f}$  = Varianz

F = Varianzverhältnis

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 8: Transformierte Mittelwerte

|             | TSH 2 Std. | TSH 8 Min. | Kontrolle | Mittelwerte |
|-------------|------------|------------|-----------|-------------|
| -30° C      | 0,17794    | 0,16116    | 0,04411   | 0,12774     |
| Zimmertemp. | 0,21373    | 0,14282    | 0,27020   | 0,20892     |
|             | 0,19583    | 0,15199    | 0,15716   | 0,16833     |

Die rot-granulierten Zellen zeigen das gleiche Verhalten wie die rot-blau-granulierten. Unter der TSH-Behandlung nimmt ihr Anteil ab, bei Abkühlung zeigen sie gegenüber Zimmertemperatur geringe Abnahme, die sich jedoch nicht sicher läßt.

Dagegen nimmt der Anteil der rot-granulierten Mastzellen bei den Kontrolltieren unter Kälteeinwirkung sehr stark ab.

Tabelle 9: Probleme der vorwiegend blau-granulierten Mastzellen

| Varianz            | SAQ     | f  | MAQ     | F      | P        |
|--------------------|---------|----|---------|--------|----------|
| zwischen Temp.     | 0,00563 | 1  | 0,00563 | 1,4146 |          |
| zw. Behandlungen   | 0,06396 | 2  | 0,03198 | 8,0352 | P < 0,01 |
| Interaction        | 0,02762 | 2  | 0,01381 | 3,4698 |          |
| zw. Wiederholungen | 0,04780 | 12 | 0,00398 |        |          |
| Summe              | 0,14501 | 17 |         |        |          |

Anmerkung:

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

f = Zahl der Freiheitsgrade

MAQ = Mittlere Abweichungsquadrate =  $\frac{SAQ}{f}$  = Varianz

F = Varianzverhältnis

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 10: Transformierte Mittelwerte

|             | TSH 2 Std. | TSH 8 Min. | Kontrolle | Mittelwerte |
|-------------|------------|------------|-----------|-------------|
| -30° C      | 0,71666    | 0,80222    | 0,92018   | 0,81302     |
| Zimmertemp. | 0,70786    | 0,84627    | 0,77839   | 0,77766     |
|             | 0,71226    | 0,82443    | 0,84928   | 0,79534     |

Bei den blau-granulierten Mastzellen lassen sich 8 Minuten nach der TSH-Applikation noch keine Unterschiede nachweisen. Dagegen nimmt der Anteil nach 2 Stunden gesichert ab.

Unter Temperatureinwirkung von -30° C nimmt lediglich bei den nicht mit TSH vorbehandelten Tieren der Anteil zu. Die Wechselwirkung liegt an der Grenze für  $P = 0,05$ , eine derartige Zunahme ist jedoch, da es sich um prozentuale Anteile handelt, als Gegensatz zu der bei den rot- bzw. rot-blau-granulierten Mastzellen beobachteten Abnahme zu erwarten.

Tabelle 11: Problem der vorwiegend homogen-blauen Mastzellen

| Varianz           | SAQ     | f  | MAQ     | F      | P                 |
|-------------------|---------|----|---------|--------|-------------------|
| Zwischen Temp.    | 0,00515 | 1  | 0,00515 | 1,0572 |                   |
| Zw.Behandlungen   | 0,05494 | 2  | 0,02742 | 5,7349 | $0,05 > P > 0,01$ |
| Interaction       | 0,00783 | 2  | 0,00391 | 0,8163 |                   |
| Zw.Wiederholungen | 0,05746 | 12 | 0,00479 |        |                   |
| Summe             | 0,12539 | 17 |         |        |                   |

Anmerkung:

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

f = Zahl der Freiheitsgrade

MAQ = Mittlere Abweichungsquadrate =  $\frac{SAQ}{f}$  = Varianz

F = Varianzverhältnis

P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 12: Transformierte Mittelwerte

|             | TSH 2 Std. | TSH 8 Min. | Kontrolle | Mittelwerte |
|-------------|------------|------------|-----------|-------------|
| -30° C      | 0,70211    | 0,63250    | 0,61843   | 0,65101     |
| Zimmertemp. | 0,71206    | 0,61099    | 0,52848   | 0,61717     |
|             | 0,70708    | 0,62174    | 0,57345   | 0,63409     |

Die Mastzellen mit vorwiegend homogen-blauem Inhalt zeigen unter Temperatureinfluß keine Änderungen ihres Anteils. Eine Wechselwirkung läßt sich ebenfalls nicht nachweisen.

8 Minuten nach der TSH-Applikation läßt sich noch keine Zunahme sichern, dagegen ist der Anteil 2 Stunden nach Verabreichung des Hormons deutlich höher als bei den Normaltieren.

### 3. Zusammenfassung

Setzt man hypothetisch voraus, daß die Gesamtzahl der Mastzellensich durch die Behandlung nicht verändert, dann lassen sich folgende Ergebnisse beschreiben:

#### Kontrolltiere bei -30° C

Es zeigt sich eine Abnahme der vorwiegend rot- bzw. rot-blau-granulierten Mastzellen.

#### 8 Minuten nach TSH-Applikation bei Zimmertemperatur

Abnahme der rot- bzw. rot-blau-granulierten Zellen, keine sichere Veränderung der homogen-blauen und der blau-granulierten Mastzellen.

8 Minuten nach TSH-Applikation bei  $-30^{\circ}$  C.

Keine Unterschiede im Vergleich zu den Ergebnissen bei Zimmertemperatur.

2 Stunden nach TSH-Applikation bei Zimmertemperatur

Hier findet sich eine Abnahme der rot- bzw. rot-blau-granulierten Mastzellen, eine Zunahme der vorwiegend homogen-blauen und eine Abnahme der vorwiegend blau-granulierten Zellen.

2 Stunden nach TSH-Applikation bei  $-30^{\circ}$  C

Keine Unterschiede im Vergleich zu den Ergebnissen bei Zimmertemperatur.

#### D) Diskussion

Die statistisch errechneten Werte lassen nun folgende Überlegungen zu:

1. Bei Kälteinwirkung tritt eine Vermehrung der blau-granulierten Mastzellen in Rattenschilddrüsen auf. Als Beweis hierfür dient der gesicherte Anstieg dieser Zellform bei den Kontrolltieren, die einer Temperatur von  $-30^{\circ}\text{C}$  ausgesetzt waren. Unter Beachtung der oben dargestellten chemischen Verhältnisse könnte deshalb von einer vermehrten Bildung von Heparin gesprochen werden. Eine Degranulation im Sinne einer Homogenisierung des Mastzelleninhalts, wie sie von verschiedenen Autoren beobachtet wurde, konnte unter dem Einfluß der Kälte nicht beobachtet werden. Hierbei ist jedoch zu beachten, daß die Versuchsbedingungen und -anordnungen sowie der Art der untersuchten Gewebe bei jenen Autoren zumeist völlig andere waren.

So fanden Piani-Giani und Fiornovelli (1958), daß während der Kälteeinwirkung diffuses und granuläres Material in der Haut erscheint, besonders in der Nachbarschaft von degranulierten Mastzellen. Wenige Stunden später, während einer Gegenschockphase, sei das extracelluläre Material verschwunden und viele degranulierte Mastzellen seien zurückgeblieben. Exstirpation des Nebennierenmarkes verstärke die erste und vermindere die zweite Phase.

Von Riley (1953) wird beschrieben, daß die Mastzellen im Inneren eines lokalen Ödems, daß durch Hitze oder Kälte am Rücken erzeugt wurde, eine homogene, glasige Beschaffenheit annehmen, als ob die Granula zusammengefließen seien. In einigen Mastzellen waren Vakuolen sichtbar. Der Degranulationseffekt war auf das ödematöse Stadium beschränkt.

Ähnliche Veränderungen beschreiben Calzavara et al. (1960). Nach Hautverbrennungen wurde Degranulation beobachtet, gefolgt von Regranulation. Die Untersuchungen waren an den peritonealen Mastzellen der Ratten vorgenommen worden, und dieses Phänomen bezeichneten diese Autoren als eine unspezifische Manifestation einer Alarmreaktion.

Schließlich beschrieb Hill (1958) eine Vakuolisierung und Degranulation der Mastzellen im Omentum und Mesenterium der Ratte nach Hitzeexposition.

2. Demgegenüber ist bei vorheriger Verabreichung von thyreotropem Hormon keine Veränderung der blau-granulierten bzw. der homogen-blauen Mastzellen festzustellen, wenn zusätzlich eine Kältebehandlung durchgeführt wurde. In einem Falle (TSH 2 Stunden bei Zimmertemperatur bzw. bei  $-30^{\circ}\text{C}$ ) ist sogar ein Absinken der blau-granulierten Mastzellen zu vermerken.

Von besonderer Bedeutung scheint hierbei zu sein, daß die Werte der verschieden differenzierten Zellen bei Zimmertemperatur denen bei Kälteeinwirkung statistisch gleich und bezüglich ihrer absoluten Werte ähnlich sind.

Dies zeigt, daß nach Verabreichung von TSH die Applikation von Kälte nicht mehr zu einer gesteigerten Bildung von Heparin führt, vorausgesetzt, daß die Sulfatgruppen des Heparins durch die Eisenhydroxydreaktion (Hale'sche Reaktion) erfaßt werden und die blaue Färbung hervorrufen.

Nicht zur Diskussion steht dabei die Frage, ob dieses Heparin neu gebildet wird oder in Vorstufen vorhanden ist, bei denen die Sulfatgruppe nicht in freier Form vorliegt.

3. Hingegen läßt sich das Absinken der rot- und der rot-blau-granulierten Mastzellen so erklären, daß sich das Gewebe in einem durch die TSH-Behandlung bedingten Erschöpfungszustand befindet und neue Vorstufen der aktiven Mastzellsubstanzen nicht gebildet werden können. Die rotanfärbbaren Zellgranula könnten hypothetisch solche Vorstufen enthalten.

4. Ein Unterschied zwischen den Mastzellen der 8 Minuten und 2 Stunden nach TSH-Applikation abgetöteten Tiere ist ebenfalls festzustellen, wenn die Werte der Zellen mit blau gefärbtem Inhalt zum Vergleich gelangen.

Nach 2 Stunden ist nämlich ein Anstieg der vorwiegend homogen-blauen Zellen zu verzeichnen, dem ein Abfall der blau-granulierten Zellen gegenübersteht. Dies spricht für eine Auflösung der Granula und damit für eine Freisetzung von Heparin nach der längeren Zeitspanne von 2 Stunden. Hier zeigt sich also der bei der reinen Kältebehandlung vermißte Degranulationseffekt, der gleichbedeutend ist mit der Freisetzung von Kreislaufaktiven Mastzellsubstanzen. Zu welchem Zeitpunkt dieser Zerfall sein Maximum aufweist, läßt sich hier nicht mit Bestimmtheit sagen, sicher jedoch liegt dieses jenseits der Zeitspanne von 8 Minuten, da 8 Minuten nach der Applikation von thyreotropem Hormon noch kein Unterschied zwischen der Anzahl der blau-granulierten und derjenigen der homogen-blauen Mastzellen im Vergleich zu den Normaltieren bei Zimmertemperatur zu verzeichnen ist.

Da es sich bei den angegebenen Zahlen lediglich um prozentuale Werte handelt, wäre noch anhand von anderweitigen Untersuchungen zu beleuchten, inwieweit sich die absolute Zahl der Mastzellen unter der Behandlung verändern.

Bezüglich der Behandlung mit thyreotropem Hormon fand Eickhoff (1965), daß die Mastzellen der Schilddrüse vollkommen unabhängig vom jeweiligen Funktionszustand des Organs sind, daß sich weder ihre Form noch ihre Zahl unter der Gabe von TSH

bzw. Methylthiouracil änderten.

Eine Behandlung mit Kälte jedoch scheint eine Vermehrung der Mastzellen in den verschiedenen Geweben hervorzurufen. Smith et al. (1954) fanden eine Vermehrung der Mastzellen im Duodenum von Fledermäusen, wenn diese im Sommer der Kälte ausgesetzt wurden, allerdings konnte diese Vermehrung auch beobachtet werden, wenn die Tiere im Winter einer Wärmebehandlung unterzogen wurden.

Hjelman konnte 1956 zeigen, daß sich die Zahl der Mastzellen in Froschherzen vergrößerte, sobald sie der Kälte ausgesetzt wurden.

Schließlich zeigten Le Blanc und Rosenberg (1957), daß sich die Zahl der Mastzellen in den perivaskulären Geweben von Rattenmesenterien unter der Kälteinwirkung vergrößerte, während sie sich in den intervasculären Gebieten verkleinerte. Vermehrung wurde dabei auch in der Bauchhaut beobachtet, Verminderung in der Haut des Ohres, welches von der Kälte stärker betroffen ist. Die beiden ersten Fälle sollen dabei durch eine allgemeine Kältewirkung erklärt werden, letzterer sei mehr als lokaler Effekt anzusehen.

Diese mannigfaltigen Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß speziell die Einwirkung von Kälte als Stresssituation eine Vermehrung der Mastzellen

hervorrufen, deren kreislaufaktive Substanzen der Organismus in erhöhtem Maße benötigt. Le Blanc (1963) zieht die Möglichkeit in Erwägung, daß eine vermehrte Histaminsekretion durch proliferierende Mastzellen für die Kälteadaptation verantwortlich ist.

Schließlich seien andere Autoren erwähnt, die keine Vermehrung der Mastzellen nach Kälteapplikation feststellen konnten. So z.B. Jamieson und van den Brenk (1961), die ihre Untersuchungen am Mesenterium der Ratte vornahmen.

Schoch und Glick (1953) hingegen zeigten, daß der Stress der Kälteeinwirkung keine andauernden Veränderungen in den Hautmastzellen der Ratte nach sich zieht.

Im Falle der vorliegenden Untersuchungen spielen die absoluten Werte der Mastzellen jedoch eine untergeordnete Rolle, es konnte anhand der relativen Verteilung der verschieden anfärbbaren Mastzellen gezeigt werden, daß das thyreotrope Hormon nicht nur den endokrinen Anteil der Schilddrüse beeinflusst, sondern auch das interfollikuläre Gewebe.

### E) Zusammenfassung

18 weiße Ratten wurden mit TSH, mit Kälte bzw. mit beidem behandelt und Gewebsschnitte aus der Schilddrüse mittels der Hale-PAS-Reaktion gefärbt. Sodann wurden die Mastzellen des interfollikulären Gewebes aufgesucht, je 100 pro Präparat nach Farbe und Beschaffenheit des Inhalts differenziert und die erhaltenen Werte denjenigen einer unbehandelten Kontrollgruppe gegenübergestellt. Da die verschiedene Anfärbbarkeit eng zusammenhängt mit der chemischen Konstitution der in den Mastzellen enthaltenen Stoffe, insbesondere des Heparins und seiner Vorstufen, konnte anhand statistischer Berechnungen festgestellt werden, daß unter dem Einfluß einer Kälteeinwirkung diese Substanzen vermehrt gebildet, aktiviert bzw. in den Kreislauf gebracht werden, daß diese Effekte jedoch nicht zu beobachten sind, wenn die Tiere vorher eine Behandlung mit thyreotropem Hormon unterzogen worden waren. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß das TSH außer dem endokrinen Anteil der Schilddrüse auch das interfollikuläre Gewebe, in welchem die Mastzellen anzutreffen sind, beeinflußt.

F) Literaturverzeichnis

- Benditt, E.P., Wong, R.L., Arase, M., and Roeper, E.:  
5-Hydroxytryptamine in mast cells. Proc.  
Soc. exp. Biol. N.Y. 90, 303-304 (1955).
- Calcavara, F., Corsi, M., Mezzanotte, S.:  
Il Sistema masto citario del peritoneo del  
ratto dopo roentgen irradiazione e dopo  
scottatura (Nota 1). Riv. Anat. Pat., 17, 274  
(1960).
- Cavelli-Sforza, L.: Grundbegriffe der Biometrie.  
G. Fischer-Verlag, Stuttgart, 75-80 (1964).
- Ehrenbrand, F.: Über die Mastzellen im Paraganglion  
caroticum des Kalbes. Anat. Anz. Bd. 115,  
297-307 (1964).
- Ehrlich, P.: Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen  
und ihrer Verwendung in der mikroskopischen  
Technik. Arch. Mikr. Anat. 13, 263-277 (1877).
- Eickhoff, W.: Die Schilddrüse. Joh. A. Barth-Verlag,  
München, 23 (1965).
- Frick, R.: Zur Physiopathologie der Mastzellen (Heparin-  
speicherung und-ausschüttung ). Acta haemat.  
5, 97-109 (1950).
- Gusek, W.: Submikroskopische Untersuchungen zur Fein-  
struktur aktiver Bindegewebszellen. Veröffent-  
lichung aus der morph. Path. 64, 62-70 (1962).
- Hill, M.: Über den Einfluß experimenteller Schockbe-  
dingungen auf die Mastzellen. Acta anat.  
(Basel), 35, 118 (1958).
- Hjelman, G.: Beobachtungen an Mastzellen bei normalen  
patholog. Zuständen. Anat. Anz., 102, 396 (1956).
- Holmgren, H., und Wilander, O.: Beitrag zur Chemie  
und Funktion der Ehrlich'schen Mastzellen.  
Z. mikr. anat. Forsch. 52, 242-278 (1937).

- Jamieson, D. und van den Brenk, H.A.S.: Relation of mast cell changes to hypothermie in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 2, 35 (1961).
- Jaques, L.B., und Waters, E.T.: The idendity and origin of the anticoagulant of anaphylactic shock in the dog. *J. Phys.* 99, 454-466 (1941).
- Jorpes, E.: The chemistry of heparin. *Biochem. J.* 29, 1817-1830 (1935).
- Jorpes, E. und Yamashina, I.: 7. Colloquium der Gesellschaft für physiol. Chemie. Springer-Verlag, Berlin, (1956).
- Jorpes, E., Odeblad, E., Boström, H.: An autoradiographic study on the uptake of  $S_{35}$  labelled sodiumsulfat in the mast cells. *Acta haemat. (Leipzig)*, 9, 273-276 (1953).
- Korn, E.D.: The encymatic sulfation of heparin. *J. Biol. Chem.* Vol. 234-674 (1959).
- Lange, W.: Untersuchungen über die färberischen Eigenschaften des Heparins in vitro. *Acta histochem.* Bd. 24, 1-7 (1966).
- Le Blanc, J.: ~~Peripherial~~ tissue adaption to cold. *Fed. Proc.*, 22, 937 (1963).
- Le Blanc, J., and Romberg, F.: Mast cell changes in animals exposed to cold. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 96, 234 (1957).
- Lindner, D.: Die Sekretionsmorphologie der Mastzellen unter normalen und experimentellen Bedingungen. *Internat. Anatomenkongress Wiesbaden* (1965).
- Lindner, J.: Experimentelle Untersuchung über Stoffaufnahmen und Stoffumformung in reticulären Zellen unter besonderen Bedingungen. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 39, 354-366 (1955).

- Lison, L.: Etudes sur la metachromasie. Colorants metachromatiques et substances chromotropes. Arch. Biol. 46, 599-688 (1935).
- Magnusson, S. und Larsson, B.: Uptake of  $S_{35}$  - labelled sulfate in the heparin of a dog mastocytoma. Acta chem. Scand. 9, 534 (1955).
- Mc Manus, J.F.A., and Mowry, R.W.: Staining methods, Histologic and Histochemical. Hoeber, P.B., Medical Division of Harper and Bros. (N.Y.) (1960).
- Müller, G.: Über eine Vereinfachung der Reaktion nach Hale. Acta histochem. 2, 68-70 (1955-56)
- Der histotopochemische Nachweis der Mucoitinschwefelsäure in mucösen und mucoiden Drüsen. Verh. anat. Ges. 45, 348-354 (1957).
- Die Darstellung saurer Mucopolysaccharide durch die Toluidinblau-Metachromasie, die Alcianblaufärbung, die PAS-Reaktion und die Ferrihydroxyd-PAS-Reaktion. Acta histochem. 6, 218-224 (1959).
- Pianigiani, A., und Fiornovelli, F.: Rilievi sperimentale di istopatologia della reazione di allarme dopo surren ectomie. Gazz. int. Med. Chir. 63, 1268 (1958).
- Riley, J.F.: The relationship of the tissue mast cells to the blood vessels in the rat. J. Path. Bact. 65, 461 (1953).
- Riley, J.F. and West, G.B.: The presents of histamine in tissue mast cells. J. Physiol. (London) 120, 528-537 (1953).
- Schauer, A.: Die Mastzelle. Veröffentl. aus der morph. Reihe. 68, (1964).

- Schoch, E.P. und Glick, D.: The effect of cold stress, ACTH, cortisone, pyrogen, and nitrogen mustard on tissue mast cells in the skin and subcutaneous tissues of the rat. J. invest. Derm. 20, 119 (1953).
- Selye, H.: The Mast Cells. Butterworths, Washington, 220-221 (1965).
- Smith, C., and Svihla, I.: Blood clotting time and tissue mast cell number of the bat in different physiological states. Proc.Soc. exp. Biol. (N.Y.) 86, 473 (1954).
- Staemmler, M.: Untersuchungen über das Vorkommen und die Bedeutung der histogenen Mastzellen im menschlichen Körper unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Frankf. Zf. Pathol. 25, 391-435 (1921).
- Waldeyer, W.: Über Bindegewebszellen. Arch. mikr. Anat. 11, 176-194 (1875).
- Wilander, O.: Studien über Heparin. Scand. Arch. Physiol. 81, 1-89 (1939).
- Wolfrom, M.L., Montgomery, R., Karabinos, J.V. und Rathges, P.J., Am. chem. Soc. 72, 5796 (1950).



Besonderen Dank schulde ich Herrn  
Professor Dr. med. G. Müller und  
Herrn Dr. med. Dudeck für die be-  
reitwillige Unterstützung bei der  
Durchführung meiner Arbeit.



## Lebenslauf

Am 2. August 1939 wurde ich als Sohn des Geschäftsführers Oswald Zerbe und seiner Ehefrau Herta geb. Becker in Wiesbaden geboren.

Nach 4-jährigem Besuch der Grundschule in Wiesbaden-Rambach war ich von 1950 bis 1959 Schüler der Leinizschule Wiesbaden (Realgymnasium) und legte am 27. 2. 1959 die Reifeprüfung ab.

Nach der Absolvierung meiner Wehrpflicht begann ich im Frühjahr 1960 das Medizinstudium an der Universität Mainz, wo ich nach 2 Semestern die naturwissenschaftliche und nach 5 Semestern die medizinische Vorprüfung ablegte.

1963-64 studierte ich 2 Semester an der Universität Innsbruck und kehrte dann wieder nach Mainz zurück, wo ich in der Zeit vom 1. 3. 1966 bis 29. 7. 1966 die ärztliche Staatsprüfung ablegte.

Seit 1. 9. 1966 bin ich am Kreiskrankenhaus Idstein/Ts. auf der chirurgischen Abteilung als Medizinalassistent tätig.





